



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

### **Neoplasia da Cabeça e Pescoço versus Neoplasia do Pulmão: Uma Análise Comparativa**

Rute dos Santos Pereira

---

**Maio'2019**



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

### **Neoplasia da Cabeça e Pescoço versus Neoplasia do Pulmão: Uma Análise Comparativa**

Rute dos Santos Pereira

**Orientado por:**

Dr. Marco Simão

---

**Maio'2019**

## Resumo

O cancro da cabeça e pescoço (CCP) é a sexta causa de cancro mais comum, com cerca de 650000 novos casos e 350000 mortes por ano, a nível mundial. Já o cancro do pulmão (CP) é a neoplasia com maior taxa de incidência anual no mundo, com 2.09 milhões de novos casos, sendo também a mais mortal.

Ambos têm como principal fator de risco o fumo do tabaco, que percorre todo o trato respiratório criando um campo de lesão contínuo. Nesta revisão tentar-se-á perceber se isso significa que partilham outras características, a nível epidemiológico, genético e molecular e quais as implicações que essas diferenças/semelhanças poderão ter para o doente.

A ação carcinogénica do tabaco parece ser muito semelhante nas duas neoplasias. Envolve mecanismos de stress oxidativo, formação de adutos de ADN, alterações epigenéticas e ativação de vias de proliferação celular. Os genes mais frequentemente alterados são o *KRAS*, *CDKN2A*, *TP53*, *PIK3CA* e *RB*.

Estudos demonstram que o perfil de expressão genética em células citologicamente normais do epitélio dos brônquios pode distinguir, com alta sensibilidade e especificidade, fumadores com e sem CP. Uma alternativa menos invasiva seria utilizar as células do epitélio oral/nasal, onde se encontraram as mesmas alterações identificadas nos brônquios.

Um dos principais fatores de risco do CCP orofaríngeo é o HPV. Os seus efeitos a nível do CP têm despertado grande curiosidade. Um estudo concluiu que o tecido pulmonar tumoral era 4x mais provável de ser HPV-positivo que o tecido pulmonar normal, sugerindo uma ligação entre infeção por HPV e CP.

Indivíduos com CCP têm um risco mais elevado de desenvolver uma neoplasia síncrona, uma segunda neoplasia primária ou metástases no pulmão.

**Palavras-chave:** Cancro da Cabeça e Pescoço; Cancro do Pulmão; Epidemiologia; Tabaco; HPV.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

## Abstract

Head and neck cancer (HNC) is the sixth most common cause of cancer, with about 650000 new cases and 350000 deaths per year, worldwide. Lung cancer (LC) has the highest incidence rate in the world and is the most mortal one.

Both have cigarette smoke as the main risk factor, that goes through the airway and creates a continuous lesion field. In this review we'll try to understand if that means they share other features, such as epidemiology trends, genetic and molecular alterations and what could be the implications of these similarities/disparities to the patient.

The carcinogenic action of tobacco seems to be very similar in both cancers. It involves oxidative stress, formation of DNA adducts, epigenetics changes and activation of cellular proliferation pathways. The genes most commonly altered are *KRAS*, *CDKN2A*, *TP53*, *PIK3CA* and *RB*.

Studies show that the profile of genetic changes in cytological normal cells in the bronchi's epithelium can distinguish, with high sensitivity and specificity, smokers with and without lung cancer. A less invasive alternative would be using oral/nasal epithelium, where were found the same alterations identified in the bronchi.

One of the main risk factors for oropharyngeal HNC is HPV. Its effects on the lung have been of great interest and curiosity. A study showed that cancerous lung tissue was 4 times more likely to be HPV-positive than normal lung tissue, suggesting a link between HPV infection and LP.

Subjects with HNC have a higher risk of developing a synchronous cancer, a second primary cancer or metastasis in the lung.

**Keywords:** Head and Neck Cancer; Lung Cancer; Epidemiology; Tobacco; HPV

## Índice

Resumo.....	3
Abstract .....	4
Introdução .....	6
Comparação da Evolução Epidemiológica.....	7
Epidemiologia em Portugal.....	9
Taxa de Sobrevivência aos 5 anos.....	10
Tabaco: Um Fator Comum.....	10
Alterações Moleculares em Comum .....	11
Epitélio Oral: Potencial Preditivo no Cancro do Pulmão .....	14
Diferenças Genéticas.....	15
HPV-Positivo: Uma Nova Entidade.....	16
Neoplasias Síncronas, Segundas Neoplasias Primárias e Metástases .....	19
Metastização.....	19
Conclusão.....	21
Agradecimentos.....	22
Referências Bibliográficas .....	23

## Introdução

O cancro da cabeça e pescoço (CCP) inclui um grupo bastante heterogéneo de entidades, englobando as neoplasias que afetam a cavidade oral, a faringe, laringe, fossas nasais, seios perinasais e glândulas salivares. São a sexta causa de cancro mais comum do mundo,<sup>1</sup> com cerca de 650000 novos casos e 350000 mortes por ano, a nível mundial.<sup>2</sup> Por sua vez, o cancro do pulmão (CP) é o cancro com maior taxa de incidência anual em todo o mundo, sendo também o mais mortal.<sup>3</sup>

Neste sentido, ambos acarretam um grande peso para a saúde a nível mundial, a nível de perdas de vidas, de morbilidade e de custos na saúde, tendo um grande impacto socioeconómico.<sup>2-4</sup>

Considerando que a via aérea se organiza de forma contínua e que em geral é exposta aos mesmo agentes agressores, é lógico inferir que ações nocivas destes se façam sentir ao nível dos vários órgãos que a constituem. Por exemplo, tanto o cancro da cabeça e pescoço como o cancro do pulmão partilham como principal fator de risco o fumo do tabaco, pelo que possivelmente partilharão outras características. No entanto, como são duas neoplasias habitualmente abordadas na prática clínica por especialistas de áreas diferentes é bastante desafiante encontrar bibliografia e trabalhos investigativos em que sejam abordadas em conjunto.

Neste trabalho pretendo realizar uma revisão sistemática que consiga reunir a informação sobre ambas as neoplasias e compará-las. Abordarei a evolução epidemiológica ao longo do tempo, comparando a incidência, mortalidade e estadio no momento do diagnóstico; o efeito e modo de interação molecular do fumo do tabaco com as vias aéreas superiores e com o pulmão; qual o papel do vírus do papiloma humano (HPV) no cancro da cabeça e pescoço e no cancro do pulmão. Por fim, explorarei o desafio de distinguir um tumor primário/síncrono do pulmão de uma metástase pulmonar da neoplasia da cabeça e pescoço.

Com esta análise procuro adquirir uma visão mais abrangente e interligada de ambas as patologias e chegar a eventuais conclusões ou explicações para disparidades que existam entre elas.

Por último, importa referir que 90% dos CCP são carcinomas de células escamosas,<sup>5</sup> pelo que os restantes subtipos, pela sua incidência menor e particularidades, não são objeto de revisão neste trabalho.

## Comparação da Evolução Epidemiológica

O cancro da cabeça e pescoço constitui a sexta causa de cancro mais comum do mundo,<sup>1</sup> com uma estimativa de mais de 650000 novos casos e 350000 mortes por ano, a nível mundial.<sup>2</sup> Tem maior incidência nos indivíduos do sexo masculino, após a 5ª-6ª década de vida.<sup>4</sup>

O tipo mais frequente de cancro da cabeça e pescoço é o carcinoma das células escamosas, constituindo mais de 90% dos casos. Historicamente, os principais fatores de risco para o seu desenvolvimento são o consumo de tabaco e álcool, mais associados ao cancro a nível da cavidade oral e laringe.<sup>5</sup> Durante anos o número de novos casos não parava de aumentar, até em 1964 ter sido identificada a relação de causalidade entre fumar e cancro, em específico o cancro do pulmão, o que provocou lentamente uma descida no número de fumadores desde então.<sup>4</sup> Ainda que o tabaco se mantenha como o fator de risco de maior peso, na última década tem-se verificado uma mudança no padrão epidemiológico, com uma diminuição na incidência de patologia na laringe, maioritariamente nos países desenvolvidos. Esta mudança observa-se em paralelo com a diminuição do número de fumadores nesses países, fruto de uma maior consciencialização da população para os riscos do tabaco.<sup>5</sup>

Por contraste, houve um aumento recente na incidência do carcinoma de células escamosas orofaríngeo, atribuído à crescente exposição oral ao HPV, que apresenta sinergia preferencial para essa localização e surge agora como um dos principais fatores de risco para esta neoplasia. O prognóstico e taxa de sobrevivência aos 5 anos do CCP associado ao HPV é substancialmente melhor que o relacionado com o fumo.<sup>1</sup> O CCP HPV+ surge tipicamente em indivíduos mais jovens (antes da 4ª década de vida), sem um historial forte de abuso de álcool ou tabaco, mas com diversos parceiros sexuais ao longo da vida.<sup>4</sup>

O cancro do pulmão é o cancro com maior taxa de incidência anual em todo o mundo, com 2.09 milhões de novos casos, sendo também o mais mortal, com 1.76 milhões de mortes, em 2018.<sup>3</sup>

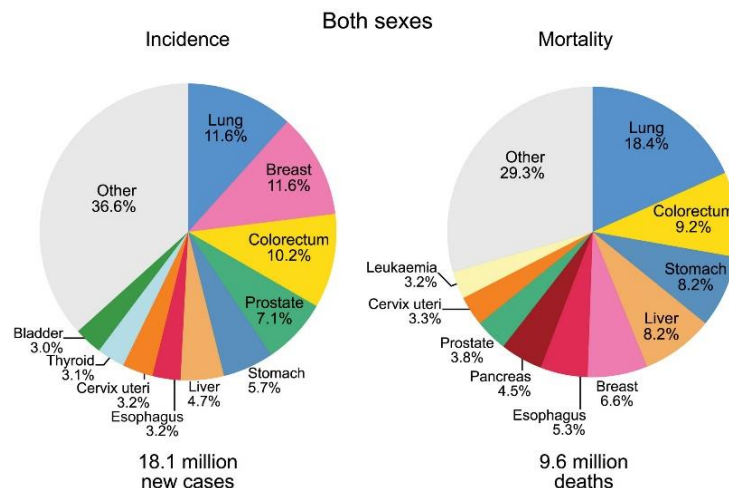


Figura 1: Taxa de Incidência e Mortalidade mundiais das neoplasias mais frequentes, em ambos os sexos, no ano de 2018.<sup>3</sup>

É classificado em dois tipos principais: cancro de pequenas células, que representa cerca de 20% dos casos e em cancro de células não pequenas, sendo este o mais comum (70-80% dos casos). Por sua vez este divide-se em três subtipos: grandes células, adenocarcinoma e de células escamosas. Tal como no cancro da cabeça e pescoço, o principal fator de risco é a inalação de fumo, maioritariamente associado ao cancro de pequenas células, ao carcinoma de células escamosas e de seguida aos adenocarcinomas (que são o tipo mais comum em indivíduos não fumadores). Apenas 20% dos fumadores irão desenvolver cancro do pulmão,<sup>6</sup> mas cerca de 85-90% dos diagnósticos são em indivíduos fumadores.<sup>7</sup>

Em termos histológicos, a tendência tem sido de um aumento progressivamente maior de adenocarcinomas, o que poderá estar relacionado com as mudanças na composição do cigarro. Ao longo do tempo o cigarro foi modificado de forma a conter partículas cada vez mais pequenas para uma inalação mais profunda, facilitando a sua chegada aos bronquíolos terminais, onde se encontra o epitélio glandular do pulmão, em oposição a depositarem-se apenas nos brônquios de maior dimensão, constituídos por células escamosas.<sup>8</sup>

Em termos geográficos, as maiores taxas de incidência encontram-se na Ásia, no leste Europeu e norte de África, países onde ainda há uma fraca consciencialização acerca dos perigos do tabaco. Na China em particular, as altas taxas de incidência, mesmo entre o sexo feminino onde há uma baixa prevalência de fumadoras, relacionam-se principalmente com os elevados níveis de poluição e utilização de fornos de carvão dentro de casa.<sup>3</sup>



Tal como no caso do CCP, o padrão epidemiológico do cancro do pulmão também tem sofrido alterações ao longo do tempo. Nos indivíduos do sexo masculino da grande maioria dos países “desenvolvidos” a taxa de incidência parece ter atingido um “pico” alguns anos depois de o link entre fumar e cancro do pulmão ter sido estabelecido, e desde então tem vindo a decrescer lentamente. Já nos indivíduos do sexo feminino a curva epidémica parece menos avançada, observando-se ainda uma tendência crescente, possivelmente explicada pela associação nas últimas décadas entre o ato de fumar e a emancipação feminina. Isto poderá vir a inverter as estatísticas atuais, em que a incidência no sexo masculino ainda é superior à do sexo feminino.<sup>3</sup>

A incidência de cancro do pulmão e a sua mortalidade em não fumadores tem vindo a aumentar.<sup>6</sup>

## Epidemiologia em Portugal

Segundo dados de 2015, em Portugal há anualmente 3000 novos casos de CCP, com incidência de 52/100000 no sexo masculino e de 8/100000 no sexo feminino. As taxas de mortalidade são de 20/100000 e 3/100000 respetivamente.<sup>9</sup>

Já no cancro do pulmão, segundo as estatísticas da Globocan 2018 para Portugal, o cancro do pulmão ocupa o quarto lugar em termos de incidência (5284 novos casos), sendo ultrapassado pelo cancro da próstata, mama e colorretal. É, no entanto, o que apresenta maior mortalidade, com 4671 casos em 2018.<sup>3</sup>

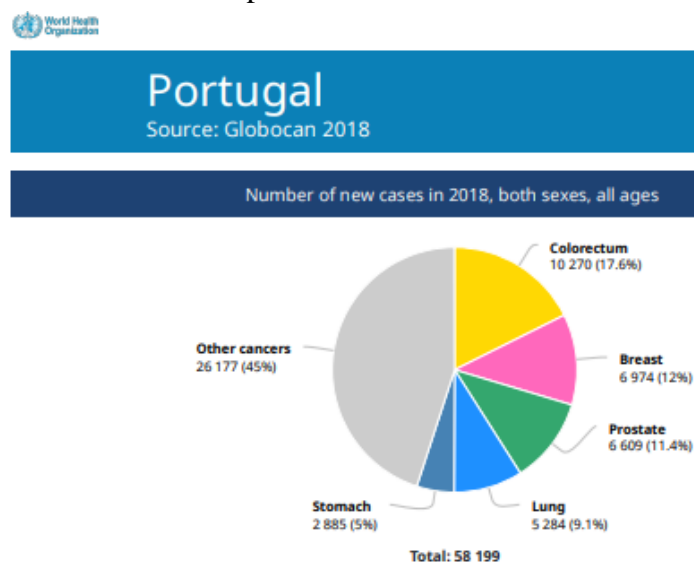


Figura 2: Taxa de Incidência das neoplasias mais frequentes em Portugal em 2018, nos dois sexos.<sup>3</sup>

O padrão epidemiológico ao longo do tempo também revela uma estabilização (e até ligeira diminuição) na incidência e mortalidade do cancro do pulmão no sexo masculino, enquanto no feminino parece continuar em cinética crescente, em concordância com o que se verifica a nível internacional nos países desenvolvidos.<sup>10</sup>

## Taxa de Sobrevivência aos 5 anos

A taxa de sobrevivência do cancro do pulmão aos 5 anos é extremamente baixa (apenas 8-16%),<sup>6,7</sup> o que em parte se deve ao fato de que raramente o diagnóstico é realizado nos estadios iniciais da doença (I e II). Cerca de 30% dos pacientes é diagnosticado no estadio III e 40% já no estadio IV. O diagnóstico é frequentemente tardio porque a doença apresenta-se de forma insidiosa, com sintomas pouco específicos (cansaço, perda de peso, tosse, dispneia) que os doentes têm dificuldade em reconhecer. É comum que os doentes só recorram ao médico nos estadios mais avançados, em que surgem queixas de hemoptise ou um agravamento franco da restante sintomatologia. Além disso, a terapêutica atualmente disponível para o tratamento do cancro do pulmão não tem taxas de sucesso muito alta, e em termos cirúrgicos é um órgão de difícil acesso e ressecção.<sup>6</sup> O prognóstico é relativamente melhor em indivíduos do sexo feminino, que têm uma taxa de sobrevivência aos 5 anos discretamente superior.<sup>8</sup>

Já a taxa de sobrevivência do cancro da cabeça e pescoço aos 5 anos ronda uns modestos 50-60% nos países desenvolvidos e 30% nos países em desenvolvimento.<sup>11</sup> Também nestas neoplasias os sintomas iniciais costuma ser bastante inespecíficos ou pouco reconhecidos pelos doentes, pelo que à apresentação inicial, mais de 40% dos pacientes já tem envolvimento regional dos nódulos linfáticos (estadio IVa ou IVb) e 10% já apresentam metástases distantes (estadio IVc). Apesar disso, comparativamente à neoplasia do pulmão, as neoplasias da cabeça e pescoço no geral são mais facilmente acessíveis para realizar ressecção cirúrgica, o prognóstico vai variar não só consoante a localização do tumor como pelo status HPV (cuja positividade confere um prognóstico bastante melhor), pelo que a sobrevivência é ainda assim bastante superior.<sup>5</sup>

## Tabaco: Um Fator Comum

O fumo do tabaco percorre todo o trato respiratório de forma contínua, criando um campo de lesão que afeta as diversas partes que o constituem.<sup>12</sup>

O carcinoma de células escamosas é de longe o subtipo mais comum de cancro da cabeça e pescoço, sendo frequentemente classificados em HPV positivo ou HPV negativo. Este último mantém-se como o mais prevalente, apesar do “shift” epidemiológico das últimas décadas, sendo o tabaco o maior carcinogénico identificado.

Também no cancro do pulmão o fumo do tabaco é o fator de risco mais reconhecido, associado a todos os seus tipos, mas particularmente ao cancro de células pequenas e ao carcinoma de células escamosas (o segundo subtipo mais comum dentro do cancro do pulmão de células não pequenas, representando cerca de 20-30% do total de casos).<sup>13</sup>

Assim, apesar de serem doenças clinicamente heterogêneas, partilham várias características moleculares e reconhecem o fumo como um fator de risco em comum, o que sugere uma patogénese semelhante. Considerando ainda as semelhanças morfológicas a nível microscópico, o diagnóstico entre tumor primário síncrono ou metástase pode ser desafiante.<sup>13</sup>

### Alterações Moleculares em Comum

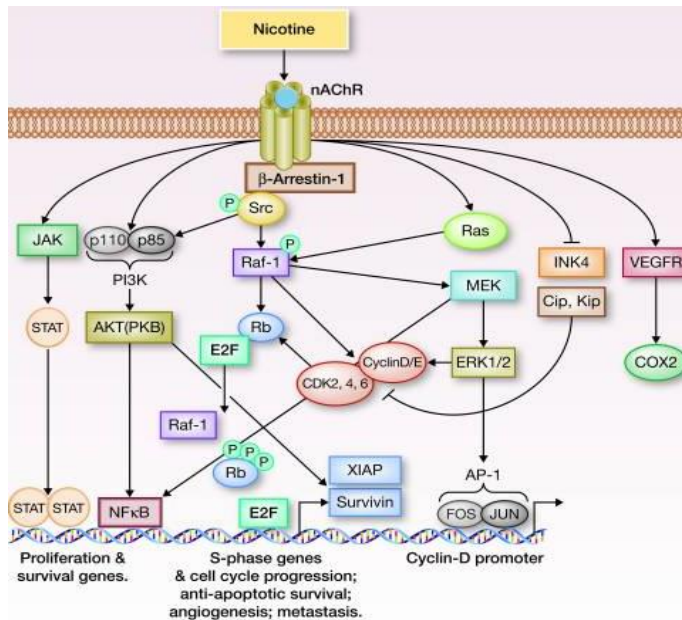
O tabaco contém mais de 60 compostos carcinogénicos identificados, entre os quais as N-nitrosaminas, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e as aminas aromáticas são reconhecidas como as substâncias carcinogénicas mais fortes.<sup>14</sup>

Um dos mecanismos iniciais de agressão do fumo do tabaco relaciona-se com o aumento do stress oxidativo. O fumo do tabaco é rico em espécies reativas de oxigénio, particularmente radicais livres de oxigénio e superóxido, sendo que este último é reduzido nas células, formando peróxido de hidrogénio. Na sua constituição encontramos também quinonas, substâncias que reduzem o oxigénio a superóxido e peróxido de hidrogénio. A nível celular estas espécies reativas têm a capacidade de destruir a membrana da célula, causar peroxidação de lípidos e lesar diretamente o ADN celular, causando mutações genéticas. Desencadeiam também uma resposta inflamatória intensa, com apoptose, remodelação celular e libertação de fatores de crescimento celular e vascular. Nos fumadores, este estado de inflamação torna-se crónico, o que juntamente com o dano direto ao ADN, torna as espécies reativas de oxigénio um dos grandes contribuidores da carcinogénese.<sup>7,15</sup>

Um dos mecanismos do tabaco reconhecido como o principal iniciador de carcinogénese é a indução da formação de adutos de ADN, maioritariamente pelas aminas aromáticas e os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, com consequente desregulação da transcrição de oncogenes e genes de supressão tumoral. Estes adutos causam erros durante a replicação do ADN, sendo tipicamente encontradas transições e transversões nos sítios CpG dos genes comumente alterados em pacientes fumadores,

nomeadamente *KRAS*, *CDKN2A*, *TP53*, *PIK3CA* e *RB*, entre outros. Curiosamente, em carcinomas de células escamosas da cabeça e pescoço HPV positivos (e que portanto têm a sua carcinogénese ligada ao vírus e não ao tabaco), o padrão de mutações difere substancialmente. As transversões dos sítios CpG são bastante raras, enquanto que mutações nos sítios TpCp são as mais comuns.<sup>13,16</sup>

Um outro mecanismo está relacionado com a nicotina e os seus derivados, que não têm a capacidade de iniciar o processo de carcinogénese, no entanto promovem e facilitam as etapas subsequentes (proliferação celular e crescimento tumoral, evasão da apoptose, angiogénese, transição epitélio-mesenquimal, migração, diminuição da resposta imunitária...).<sup>13</sup>

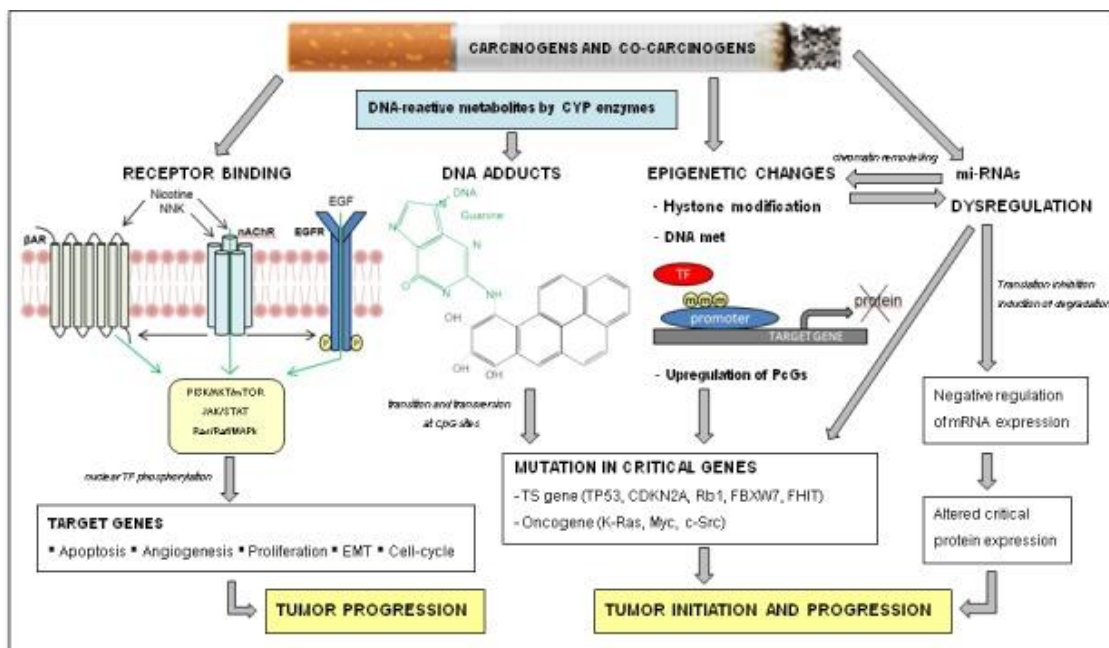


**Figura 3: Efeito da ligação da nicotina aos recetores nicotínicos da acetilcolina.**

A ligação da nicotina aos recetores ativa as cascatas sinalizadoras JAK/STAT, RAS/RAF/MAPK e PI3K/AKT/mTOR, com subsequente aumento da transcrição de genes de proliferação celular, anti apoptóticos e responsáveis pela angiogénese.<sup>17</sup>

Os seus efeitos são desencadeados pela ligação ao recetor nicotínico da acetilcolina, com ativação subsequente de várias cascatas sinalizadoras, como a JAK/STAT, RAS/RAF/MAPK e PI3K/AKT/mTOR. Estimulam ainda um aumento da expressão de ciclinas e a diminuição de inibidores das quinases dependentes de ciclinas (iCDK), induzindo a progressão celular mesmo em células que apresentem mutações do DNA.<sup>17</sup>

O fumo do tabaco pode também influenciar a expressão de proteínas através da indução de alterações epigénicas, como a metilação do DNA, modificações das histonas ou desregulação de miRNAs.<sup>13,14</sup>



**Figura 4: Carcinogénese do fumo do tabaco.**

Os principais mecanismos de carcinogénese do tabaco envolvem a formação de adutos de ADN, alterações epigenéticas e desregulação de mi-RNAs e a indução de várias cascatas de sinalização promotoras do crescimento celular pela nicotina, apesar de esta por si só não ser capaz de iniciar o mecanismo de carcinogénese.<sup>13</sup>

Cerca de 85% dos carcinomas de células escamosas (CCS) do pulmão e da cabeça/pescoço relacionados com o fumo do tabaco apresentam perda de função a nível do gene TP53 e cerca de 20% dos casos a nível do gene CDKN2A, ambos genes supressores de tumores.<sup>13</sup>

Outras alterações típicas nos CCS incluem a perda de cromossoma 3p e a amplificação do cromossoma 3q, mutações da família NOTCH, das vias de sinalização NFkB1 e Hippo.<sup>13</sup>

Múltiplos estudos, análises genómicas e proteómicas têm confirmado que o CCS da cabeça e pescoço e o CCS do pulmão partilham diversas características moleculares e genéticas, sugerindo até que existe uma “assinatura” específica do carcinoma de células escamosas, dado que essas semelhanças são partilhadas ao nível de outros órgãos, como por exemplo pelo CCS da bexiga ligado ao fumo de tabaco.<sup>18</sup>

## Epitélio Oral: Potencial Preditivo no Cancro do Pulmão

A via aérea respiratória é constituída por diferentes órgãos que se organizam de forma contínua e que partilham entre si mecanismos de resposta à lesão tecidual e oxidativa provocada pelo fumo do tabaco.<sup>12</sup>

Vários estudos citológicos e moleculares demonstraram que mesmo em células epiteliais não cancerígenas das vias aéreas de indivíduos fumadores ou ex-fumadores é possível encontrar algumas modificações (alterações da atividade da telomerase, dos genes codificadores de antioxidantes, envolvidos no metabolismo de xenobióticos e na resposta inflamatória, reguladores da reparação de DNA e de fatores de transcrição, metilação, perda de alelos), dado que o fumo do cigarro cria um campo de lesão ao longo de todo o trato respiratório.<sup>19</sup> Já se demonstrou também que o perfil de expressão genética em células citologicamente normais do epitélio dos brônquios pode distinguir, com alta sensibilidade e especificidade, fumadores com e sem cancro do pulmão, podendo constituir um biomarcador clinicamente relevante para diagnóstico nas fases mais precoces da doença, em doentes com cancro na periferia do pulmão, em pacientes com suspeita de cancro do pulmão mas sem um diagnóstico definitivo mesmo após o processo de investigação da doença (evitando testes ainda mais invasivos), ou para avaliação de risco de cancro do pulmão em fumadores.<sup>20,21</sup> No entanto, a broncofibroscopia necessária para a colheita destas células é uma técnica ainda algo invasiva, o que tem impedido o seu uso em larga escala.<sup>19</sup>

Uma alternativa seria então utilizar as células do epitélio oral ou até nasal, que também são expostas diretamente à agressão do fumo do tabaco. Através da comparação da expressão génica das células do epitélio oral citologicamente normais com as do epitélio bronquial, em fumadores, demonstrou-se que as alterações de expressão de genes a nível das células da boca eram maioritariamente sobreponíveis às já anteriormente identificadas nas células brônquicas (por exemplo, aumento de expressão dos genes codificadores de proteínas com atividade oxirreductase CYP1A1, CYP1B1, NQO1, ALDH3A1, AKR1B10 e UGTs, entre outros).<sup>12,22</sup> Uma das implicações mais importantes destes estudos é a possibilidade de utilizar as células do epitélio oral como uma medida não invasiva de screening em fumadores saudáveis para determinação do risco de desenvolver cancro do pulmão, diagnóstico precoce de CP e para diminuir o número de indivíduos apenas com suspeita de doença (que acaba por não se confirmar) que realizam testes de diagnóstico invasivos apenas para a despistar.<sup>19</sup>

## Diferenças Genéticas

A vasta maioria dos artigos que comparam o perfil e expressão gênica em células do epitélio nasal/oral e bronquial histologicamente normais, nos indivíduos fumadores, indicam que as alterações encontradas em relação a não-fumadores são na sua grande maioria sobreponíveis em ambas as localizações, evidência de que o fumo do tabaco exerce um efeito lesional contínuo ao longo de toda a via aérea.<sup>19-22</sup>

Ainda assim, um grupo de cientistas que comparou a expressão de 119 genes nos epitélios nasal e bronquial não tumorais em fumadores, refere ter encontrado diferenças significativas em 27 deles. Desses, apenas 3 (MEC/CCL28, ALPL e GBP3) têm a sua expressão alterada a nível do epitélio nasal mas não no epitélio brônquico, enquanto os restantes encontravam-se alterados apenas a nível do epitélio bronquial. Desses, a grande maioria são genes codificadores de proteínas envolvidas na resposta antioxidante e degradação de compostos tóxicos, entre os mais relevantes: MAGF, um fator de transcrição que regula a formação de enzimas detoxificantes e componentes da resposta ao stress oxidativo; GPX2- glutathione peroxidase 2; AKR1C2- aldo-keto reductase.<sup>12</sup>

O interesse destas discrepâncias será perceber se esta indução genética numa localização específica (e não ao longo de toda a via aérea) estará relacionada com a sensibilidade à concentração dos componentes do fumo do tabaco (já que a concentração a que o epitélio brônquico está exposto é significativamente maior) e determinar se os mecanismos que contribuem para estas alterações localizadas podem explicar a diferença entre a incidência exponencialmente mais alta de cancro do pulmão em relação à do cancro da cabeça e pescoço.<sup>12</sup>

Apesar dos resultados bastante interessantes, o estudo em questão é bastante limitado, pelo que um estudo de maior escala e que permitisse efetivamente estabelecer se existe ou não uma relação entre as diferenças a nível de expressão de alguns genes no epitélio das vias aéreas superiores e inferiores e a diferença das taxas de incidência de ambos os cancros seria de grande interesse.



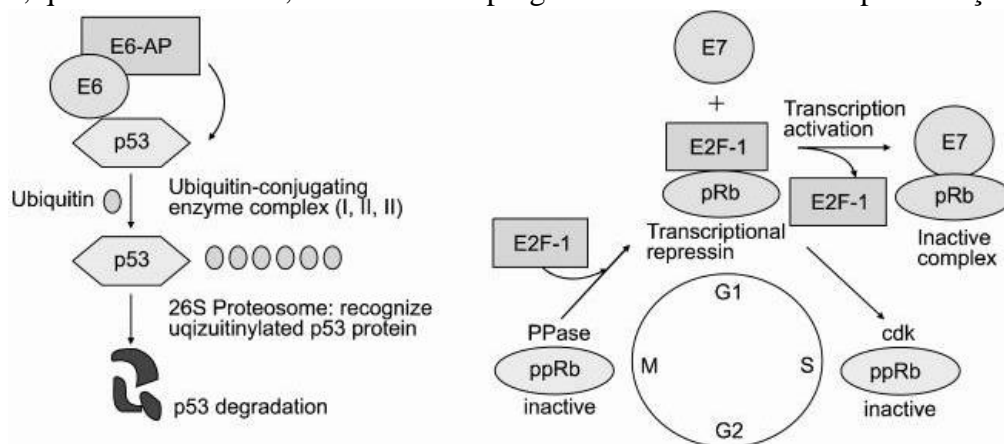
## HPV-Positivo: Uma Nova Entidade

Nas últimas décadas o papel do vírus do papiloma humano (HPV) na carcinogénese tem despertado cada vez mais interesse na comunidade científica. Inicialmente associado principalmente ao cancro do colo do útero, nos últimos anos tornou-se também um dos principais fatores de risco associados ao cancro da cabeça e pescoço, particularmente para o cancro orofaríngeo, localização para a qual tem uma sinergia preferencial. Os subtipos mais frequentemente isolados no CCP são o HPV16 (responsável por 86-95% dos cancros orofaríngeos HPV-positivos) e o HPV18.<sup>1</sup>

Sumariamente, o HPV pode levar à transformação maligna das células através de dois processos principais. Um deles é através da integração do seu genoma no ADN da célula hospedeira, o que pode originar a disrupção de genes supressores de tumor, de genes envolvidos na reparação do ADN, amplificação de oncogenes, e aumento da expressão de genes que promovem a proliferação celular ou inibem a apoptose.<sup>13</sup>

O outro mecanismo funciona através das oncoproteínas E6 e E7 que degradam a p53 e pRb, duas proteínas envolvidas na interrupção do ciclo celular, reparação do DNA e apoptose de células danificadas, o que permite então propagação de danos no ADN e a proliferação de células anormais.<sup>23</sup>

A proteína E6 forma um complexo triplo com a enzima celular de ubiquitinação E6-AP e a proteína p53, inativando-a e marcando-a para degradação. Já a proteína E7 liga-se com alta afinidade à proteína pRB, formando um complexo inativo, impedindo que esta se ligue aos fatores de transcrição da família E2F1-3 e levando à sua degradação. Assim, os fatores de transcrição E2F1-3 permanecem na sua forma não ligada, que é a forma ativa, estimulando a progressão do ciclo celular e proliferação.<sup>23</sup>



**Figura 5:** As proteínas virais E6 e E7 ligam-se às proteínas oncosupressoras p53 e pRB, causando a sua inativação e degradação.<sup>24</sup>



Considerando o papel que tem sido crescentemente atribuído ao HPV nos anos recentes como um dos principais intervenientes na carcinogénese do CCP, seria bastante interessante perceber qual será o seu efeito a nível pulmonar, se têm sido detetados cancros HPV-positivos no pulmão e se também nesse local o vírus poderá ter propriedades de transformação tumoral. Os estudos desenvolvidos até hoje nesse sentido ainda não são muito conclusivos, pelo que obviamente é necessária mais investigação para se poder retirar resultados com verdadeira validade científica, ainda assim algumas informações interessantes têm surgido.

O possível envolvimento do HPV no cancro pulmonar, mais especificamente no carcinoma de células escamosas, foi sugerido pela primeira vez em 1979 por Syrjanen que descreveu alterações epiteliais em carcinomas bronquiais como muito semelhantes às lesões já estabelecidas como típicas do HPV no trato genital.<sup>25</sup>

Desde então, diversos estudos se debruçaram sobre o tema e com a ajuda de técnicas mais modernas, tem-se detetado a presença de ADN de HPV em casos de cancro do pulmão, em percentagens largamente variáveis. Ainda assim, a maioria dos estudos parece apontar para uma prevalência algures entre os ~21-25%, dependendo da metodologia escolhida para a identificação do ADN viral, faixas etárias e áreas geográficas incluídas.<sup>26-29</sup>

Inicialmente, a via de transmissão aceite do HPV até aos pulmões era a decorrente de um contato sexual de risco, em que através do contato do sistema reprodutivo infetado com a cavidade oral, o vírus atingiria a orofaringe e posteriormente os pulmões. Enquanto isso continua a ser verdade, a deteção de ADN viral de HPV na corrente sanguínea de vários indivíduos coloca a hipótese de que o vírus pode chegar ao pulmão vindo de uma lesão cervical. Essa hipótese ganha alguma força quando 80% das mulheres em que foi detetado ADN de HPV no pulmão, tinham também uma infeção por HPV do colo do útero. Nestas, as sequências de DNA viral detetadas ao nível do pulmão, linfócitos periféricos e na citologia cervical eram iguais.<sup>26</sup>

Os subtipos de HPV mais frequentemente identificados no tecido pulmonar foram o 16 e 18, à semelhança do que se verifica noutras neoplasias relacionadas com o HPV. Tendo em conta os tipos histológicos da neoplasia do pulmão, os níveis de infeção mais altos foram detetados em carcinomas de células escamosas, adenocarcinomas e carcinoma de células pequenas do pulmão, com níveis quase inexistentes de ADN viral nos carcinomas pulmonares de grandes células.<sup>27</sup> Um estudo

concluiu que as amostras de tecido pulmonar tumoral recolhidas eram 4 vezes mais prováveis de serem HPV-positivas que amostras de tecido pulmonar normal,<sup>26</sup> sugerindo que a infecção por HPV do tecido pulmonar poderá ser um fator de risco para o desenvolvimento de cancro do pulmão, não sendo, no entanto, possível estabelecer por agora uma causa-efeito.<sup>26,27</sup>

Para perceber se a infecção viral por HPV efetivamente tem atividade a nível do tecido tumoral no pulmão, a expressão de diversos conjuntos de genes foi avaliada em tecido pulmonar tumoral de indivíduos infetados e não infetados. Verificou-se que vinte e dois genes associados à via carcinogénica viral eram significativamente mais expressos em tumores pulmonares com infecção por HPV em relação aos não infetados, suportando o papel oncogénico do HPV no cancro do pulmão.<sup>28</sup>

Outro resultado interessante é que o prognóstico e sobrevivência de indivíduos com cancro do pulmão HPV-positivo parece ser superior à de indivíduos sem a infecção viral, possivelmente por responderem melhor às terapêuticas instituídas, algo também observado no cancro da cabeça e pescoço.<sup>26,28</sup>

Os dados atualmente disponíveis são ainda bastante insuficientes e apresentam várias discrepâncias. Demonstram que existe sim uma associação entre a infecção por HPV ao nível do pulmão e o desenvolvimento de cancro do pulmão, no entanto a relação causal ainda não foi estabelecida. Embora vários autores estejam convencidos de que esta existe, alguns consideram que ainda não é claro que o HPV tenha um papel iniciador de carcinogénese no pulmão, podendo sim funcionar como um co-carcinogénico em cooperação com o fumo do tabaco. Dado que na maioria do epitélio normal do pulmão não existem células escamosas mas sim epitélio colunar cilíndrico, seria o fumo do cigarro a causar as lesões iniciais, com displasia e metaplasia escamosa, facilitando a entrada do HPV nas células, sendo a partir daí que se desenvolveriam células neoplásicas.<sup>26</sup>

Uma maior caracterização do papel do HPV no cancro do pulmão é de grande importância pois poderá ter implicações futuras a nível terapêutico que permitam um melhor outcome para estes doentes. Neste contexto, seria intrigante perceber se a vacina contra o HPV para prevenção do cancro cervical pode também ter o mesmo efeito a nível pulmonar.<sup>25</sup>

## Neoplasias Síncronas, Segundas Neoplasias Primárias e Metástases

Pacientes com CCP têm um risco aumentado (cerca de 4x em relação à restante população) de desenvolver neoplasias síncronas e de segundas neoplasias primárias (SNP) no trato aerodigestivo, em provável relação com o fato do fumo de tabaco induzir um “campo de cancerização” ao longo de toda a mucosa, com alterações genéticas presentes em toda a via, mesmo na ausência de uma massa tumoral. Assim, mesmo após a excisão do tumor primário com margens limpas, o tecido circundante pode já albergar clones pré-malignos, levando a um risco aumentado de recorrência ou do surgimento de uma nova neoplasia primária. Tumores síncronos são encontrados em 2-10% dos pacientes com CCP, já o risco cumulativo a 20 anos de desenvolver um segundo cancro primário é de cerca de 36%.<sup>4</sup>

As segundas neoplasias primárias mais frequentes após diagnóstico de CCP são o cancro do pulmão de células não pequenas (45%) e o cancro esofágico (10%).<sup>30</sup> Pacientes com cancro do pulmão como SNP têm maior probabilidade de ser diagnosticados a nível histológico com cancro de células escamosas e menor probabilidade de receber diagnóstico de cancro de células pequenas ou adenocarcinoma.<sup>31</sup>

O prognóstico e sobrevivência a 5 anos destes doentes é significativamente inferior (19-26%) ao dos doentes sem neoplasias síncronas ou metacrónicas.<sup>30</sup>

Em pacientes com CCP HPV-positivos, o risco quer de recorrência quer de uma 2ª neoplasia primária é significativamente mais baixo. Isto pode relacionar-se com a ação mais localizada do HPV, em comparação com o fumo de tabaco. Quando acontece, o prognóstico é ainda assim mais favorável, relativamente aos HPV-negativos.<sup>4</sup>

### Metastização

Os CCPs descritos como tendo maior associação a SNP são o orofaríngeo, hipofaríngeo e o supraglótico. No entanto, aqui há outro fator a ter em conta. Considerando que as neoplasias primárias supraglóticas têm o maior risco de metastizar devido ao seu rico fornecimento de nódulos linfáticos, é possível que algumas supostas segundas neoplasias primárias sejam na verdade metástases mal classificadas.<sup>31</sup>

Esta distinção é extremamente difícil de fazer usando critérios de avaliação clínicos e histológicos básicos. Ora, o diagnóstico correto de uma neoplasia do pulmão como metástase de CCP ou como SNP é de enorme relevância, dado que altera radicalmente o tratamento e prognóstico. Numa metástase pulmonar o tratamento já não será com intenção curativa, apenas paliativa; numa SNP do pulmão, este poderá ser de baixo estadió e ressecável.<sup>32</sup>

A comparação de padrões de alteração de microssatélites, mutações específicas e parâmetros moleculares genéticos tem sido defendida como a melhor forma de fazer esta distinção, embora não exista ainda uma modalidade verdadeiramente convincente. Além disso, a integração destas estratégias na prática clínica diária não parece estar próxima, pelos limites técnicos, monetários, disponibilidade geográfica e pela inerente instabilidade genética dos tumores.<sup>32</sup>

Em pacientes com CCP orofaríngeo HPV-positivo que desenvolvem uma neoplasia pulmonar, a deteção do mesmo tipo e variante de HPV no tecido pulmonar pode fazer a distinção entre SNP e metástase, mas não é um método infalível, já que há uma percentagem de cancros do pulmão primários em que foi identificada infeção por HPV.<sup>32</sup>

## Conclusão

O cancro da cabeça e pescoço e o cancro do pulmão são duas patologias que afetam uma mesma via aérea, contínua. Ambos partilham como principal fator de risco o fumo do tabaco, que lesa diretamente as células do epitélio respiratório, apesar de no grupo dos CCP ter vindo a aumentar o cancro orofaríngeo, devido ao número crescente de neoplasia ligada ao vírus do papiloma humano.

Ainda assim, a incidência e mortalidade do cancro do pulmão ultrapassa largamente a do CCP. O mesmo acontece com a mortalidade, apesar de ambos serem habitualmente diagnosticados tardiamente, nos estádios III-IV.

Quando olhamos para os mecanismos através dos quais o tabaco inicia a carcinogénese, estes parecem ser bastante semelhantes quer nas vias aéreas da cabeça/pescoço, quer no pulmão, com a maioria das alterações genéticas patológicas identificadas numa das localizações também presentes na outra.

Desta forma, e apesar de existirem algumas disparidades nas alterações genéticas no CCP e no cancro do pulmão documentadas, não parece ser a diferença da ação do tabaco no ADN das células da cabeça/ pescoço e no das células do pulmão que explica a discrepância enorme entre as incidências anuais.

Uma possível explicação lógica reside na aerodinâmica do fluxo respiratório nas vias aéreas mais superiores versus no pulmão, que passa de laminar a turbulento, condicionando uma concentração de substâncias tóxicas e tempo de exposição ao fumo do tabaco maiores no pulmão, o que também favorece a deposição das partículas tóxicas ao nível dos alvéolos, quando comparado com as vias aéreas mais superiores, que são apenas um local de “passagem” do fumo. Em concordância, demonstrou-se que o aumento cumulativo de exposição de 1kg de *tar* no tempo de vida está associado a um aumento de 61% do risco de cancro do pulmão e apenas a um aumento de 25% do risco de CCP.<sup>33</sup>

Uma questão com interesse é se as células citologicamente normais do epitélio oral podem ou não ser utilizadas como um marcador de confiança no diagnóstico precoce de cancro do pulmão, em indivíduos fumadores. Aparentemente, as alterações a nível genético e moleculares apresentam um padrão sobreponível ao encontrado nas células brônquicas normais, que já foram previamente usadas na distinção de fumadores com cancro do pulmão dos que não têm, com bastante fiabilidade, pelo que tudo indica que também as células do epitélio oral/nasal poderão ser utilizadas.

Por fim, o HPV, identificado como um dos principais fatores de risco para o CCP (em particular o orofaríngeo) tem sido descrito nos anos mais recentes como estando presente em cerca de 21-25% dos casos de cancro do pulmão. Ainda não é possível concluir acerca de uma relação causa-efeito, mas parece existir alguma associação entre a infeção por HPV ao nível do pulmão e o desenvolvimento de cancro do pulmão. Pode então constituir um fator de risco, seja por si só ou como co-carcinogénico com o fumo do tabaco.

Indivíduos com CCP têm um risco muito mais elevado de desenvolver uma neoplasia síncrona, uma segunda neoplasia primária ou metástases no pulmão. Esta distinção é de extrema importância porque tem um grande impacto no tratamento e prognóstico do doente. É essencial encontrar uma forma eficaz e clinicamente aplicável de fazer esta distinção, dado que os métodos clínicos e histológicos atualmente utilizados apresentam um alto grau de classificação incorreta.

## Agradecimentos

A autora agradece ao Dr. Marco Simão por se disponibilizar e aceitar orientar este trabalho final e em especial ao Professor Dr. Óscar Dias pelo seu empenho e dedicação aos alunos e ao ensino nesta faculdade e ainda pelo apoio e contribuição na elaboração deste trabalho final.

À minha família, em particular aos meus pais e irmã que me apoiaram sempre ao longo do curso e por me ajudarem nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos pelos momentos que partilhámos, por estarem sempre presentes e por serem uma das razões de ter chegado ao final destes 6 anos.

## Referências Bibliográficas

1. Vigneswaran N, Williams MD. Epidemiological Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis. 2014; 26(2):123-141. doi:10.1016/j.coms.2014.01.001.Epidemiological
2. Dhull AK, Atri R, Dhankhar R, Chauhan AK, Kaushal V. Major Risk Factors in Head and Neck Cancer: A Retrospective Analysis of 12-Year Experiences. *World J Oncol*. 2018;9(3):80-84. doi:10.14740/wjon1104w
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492
4. Rettig EM, D'Souza G. Epidemiology of Head and Neck Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2015;24(3):379-396. doi:10.1016/j.soc.2015.03.001
5. Marur S, Forastiere AA. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2016;91(3):386-396. doi:10.1016/j.mayocp.2015.12.017
6. de Freitas AC, Gurgel AP, de Lima EG, de França São Marcos B, do Amaral CMM. Human papillomavirus and lung carcinogenesis: an overview. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016;142(12):2415-2427. doi:10.1007/s00432-016-2197-1
7. Van Dyck E, Nazarov P V., Muller A, et al. Bronchial airway gene expression in smokers with lung or head and neck cancer. *Cancer Med*. 2014;3(2):322-336. doi:10.1002/cam4.190
8. Cheng T-YD, Cramb SM, Baade PD, Youlden DR, Nwogu C, Reid ME. The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics. *J Thorac Oncology*. 2016; 11(10):1653-1671. doi:10.1016/j.jtho.2016.05.021
9. da Saúde M. Dia do Cancro da Cabeça e Pescoço. Site Serviço Nacional de Saúde. <https://www.sns.gov.pt/noticias/2018/07/26/dia-mundial-do-cancro-da-cabeca-e-pescoco/>. Published 2018. Accessed July 20, 2019.
10. Miranda N, Gonçalves MB. Programa Nacional para as Doenças Oncológicas 2017. *Direção-Geral da Saúde*. 2017:22-24. doi:ISSN: 2183-0746
11. Banerjee J, Pradhan R, Gupta A, et al. CDK4 in lung, and head and neck cancers in old age: evaluation as a biomarker. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(5):571-578. doi:10.1007/s12094-016-1565-2
12. Zhang X, Sebastiani P, Liu G, et al. Similarities and differences between smoking-

- related gene expression in nasal and bronchial epithelium. *Physiol Genomics*. 2010;41(1):1-8. doi:10.1152/physiolgenomics.00167.2009
13. Polo V, Pasello G, Frega S, et al. Squamous cell carcinomas of the lung and of the head and neck: new insights on molecular characterization. *Oncotarget*. 2016;7(18). doi:10.18632/oncotarget.7732
  14. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(10):733-744. doi:10.1038/nrc1190
  15. Cantin AM. Cellular Response to Cigarette Smoke and Oxidants: Adapting to Survive. *Proc Am Thorac Soc*. 2010;7(6):368-375. doi:10.1513/pats.201001-014aw
  16. Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene*. 2002;21-48(6):7435-7451. doi:10.1038/sj.onc.1205803
  17. Schaal C, Chellappan SP. Nicotine-Mediated Cell Proliferation and Tumor Progression in Smoking-Related Cancers. *Mol Cancer Res*. 2014;12(1):14-23. doi:10.1158/1541-7786.mcr-13-0541
  18. Schwaederle M, Elkin SK, Tomson BN, Carter JL, Kurzrock R. Squamousness: Next-generation sequencing reveals shared molecular features across squamous tumor types. *Cell Cycle*. 2015;14(14):2355-2361. doi:10.1080/15384101.2015.1053669
  19. Spira A. Upper airway gene expression in smokers: The mouth as a “window to the soul” of lung carcinogenesis? *Cancer Prev Res*. 2010;3(3):255-258. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-10-0013
  20. Blomquist T, Crawford EL, Mullins D, et al. Pattern of antioxidant and DNA repair gene expression in normal airway epithelium associated with lung cancer diagnosis. *Cancer Res*. 2009;69(22):8629-8635. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-1568
  21. Beane J, Sebastiani P, Whitfield TH, et al. A prediction model for lung cancer diagnosis that integrates genomic and clinical features. *Cancer Prev Res*. 2008;1(1):56-64. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-08-0011
  22. Boyle JO, Gümüş ZH, Kacker A, et al. Effects of cigarette smoke on the human oral mucosal transcriptome. *Cancer Prev Res*. 2010;3(3):266-278. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-09-0192
  23. Tommasino M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2014;26:13-21. doi:10.1016/j.semcancer.2013.11.002
  24. Yim E, Ph D, Park J, Ph D. The Role of HPV E6 and E7 Oncoproteins in HPV-associated Cervical Carcinogenesis. *Cancer Res Treat*. 2005;37(6):319-324.
  25. Rezazadeh A, Laber DA, Ghim SJ, Jenson A Ben, Kloecker G. The role of human papilloma virus in lung cancer: A review of the evidence. *Am J Med Sci*.



- 2009;338(1):64-67. doi:10.1097/MAJ.0b013e3181a393ba
26. Ragin C, Obikoya-Malomo M, Kim S, et al. HPV-associated lung cancers: An international pooled analysis. *Carcinogenesis*. 2014;35(6):1267-1275. doi:10.1093/carcin/bgu038
  27. Xiong W-M, Xu Q-P, Li X, Xiao R-D, Cai L, He F. The association between human papillomavirus infection and lung cancer: a system review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(56):96419-96432. doi:10.18632/oncotarget.21682
  28. Kim Y, Pierce CM, Robinson LA. Impact of viral presence in tumor on gene expression in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1):1-13. doi:10.1186/s12885-018-4748-0
  29. Klein F, Amin Kotb WFM, Petersen I. Incidence of human papilloma virus in lung cancer. *Lung Cancer*. 2009;65(1):13-18. doi:10.1016/j.lungcan.2008.10.003
  30. Tamjid B, Phan P, John T, Mitchell P, Gan H. Outcomes for patients with synchronous and metachronous primary lung cancer after diagnosis of head and neck cancer. *Wiley Online Libr*. 2017;38(8):1544-1549. doi:10.1002/hed
  31. Crippen MM, Brady JS, Burke LA, Eloy JA, Baredes S, Park RCW. Second primary lung malignancy following head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2018;15(3):980-985. doi:10.1002/lary.27422
  32. Bishop JA, Ogawa T, Chang X, et al. HPV analysis in distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(1):142-148. doi:10.1097/PAS.0b013e3182395c7b
  33. Meyers TJ, Chang S, Chang P, et al. Case-control study of cumulative cigarette tar exposure and lung and upper aerodigestive tract cancers. *Int J Cancer*. 2017;140(9):2040-2050. doi:10.1002/ijc.30632.Case-control